



Mikrobiel nitratreduktion med pyrit som elektrondonor i danske sandede grundvandssedimenter

Jørgensen, Christian Juncher; Elberling, Bo; Jacobsen, Ole Stig; Aamand, Jens

Publication date:
2008

Document version
Også kaldet Forlagets PDF

Citation for published version (APA):
Jørgensen, C. J., Elberling, B., Jacobsen, O. S., & Aamand, J. (2008). *Mikrobiel nitratreduktion med pyrit som elektrondonor i danske sandede grundvandssedimenter*. Paper præsenteret ved ATV Jord og Grundvand - Vintermøde om jord- og grundvandsforurening, Vejle - Vingsted, Danmark.

MIKROBIEL NITRATREDUKTION MED PYRIT SOM ELEKTRONDONOR I DANSKE SANDEDE GRUNDVANDSSEDIMENTER

Cand. Scient. Christian Juncher Jørgensen
Professor Bo Elberling
Institut for Geografi og Geologi
Københavns Universitet

Seniorforsker Ole Stig Jacobsen
Seniorforsker Jens Aamand
De Nationale Geologiske Undersøgelser for Danmark og Grønland (GEUS)

ATV JORD OG GRUNDVAND
VINTERMØDE OM JORD- OG GRUNDVANDSFORURENING

VINGSTEDCENTRET
4. - 5. marts 2008

RESUME

Forhøjede nitratværdier i grundvandet har igennem de sidste par årtier udgjort en stor udfordring i forbindelse med drikkevandsindvinding. Nærværende speciale har studeret en af de formodede naturlige nedbrydningsveje for nitrat i grundvandsmagasiner, nemlig mikrobielt medieret denitrifikation med pyrit som hovedelektron donor. Igennem en række batchforsøg er det blevet eksperimentelt dokumenteret af nitrat kan reduceres med pyrit som elektron donor, og at processen er fuldstændigt afhængig af mikrobiel katalyse. Det er endvidere blevet påvist, at op imod 80 % af den observerede *in situ* nitratreduktion i et sandet grundvandsmagasin ved Fladerne Bæk på Karup hedeslette er produktet af denitrifikation med pyrit som hovedelektron donor.

INDLEDNING

Forhøjede værdier af nitrat i grundvandet i forhold til drikkevandskriteriet har igennem de sidste par årtier været et stort forureningsproblem i mange indvindingsboringer, og er en tilstedeværende udfordring ved både indsatsplanlægningen og vandmiljøplan III. Adskillige danske og internationale forskningsgrupper har i løbet af de sidste ca. 20 år undersøgt naturlige nedbrydningsveje for nitrat i grundvandsmagasiner. Nitratreduktion i grundvandsmagasiner kan finde sted efter reaktion med forskellige elektron donorer, hvoraf hyppigt nævnte donorer er reaktivt organiske stof, reducerede svovlforbindelser og ferrojern. En ofte citeret nedbrydningsvej for nitrat er denitrifikation ved reaktion med begravet pyrit i anoxiske zoner i grundvandsmagasinerne som vist i reaktionsligning 1:



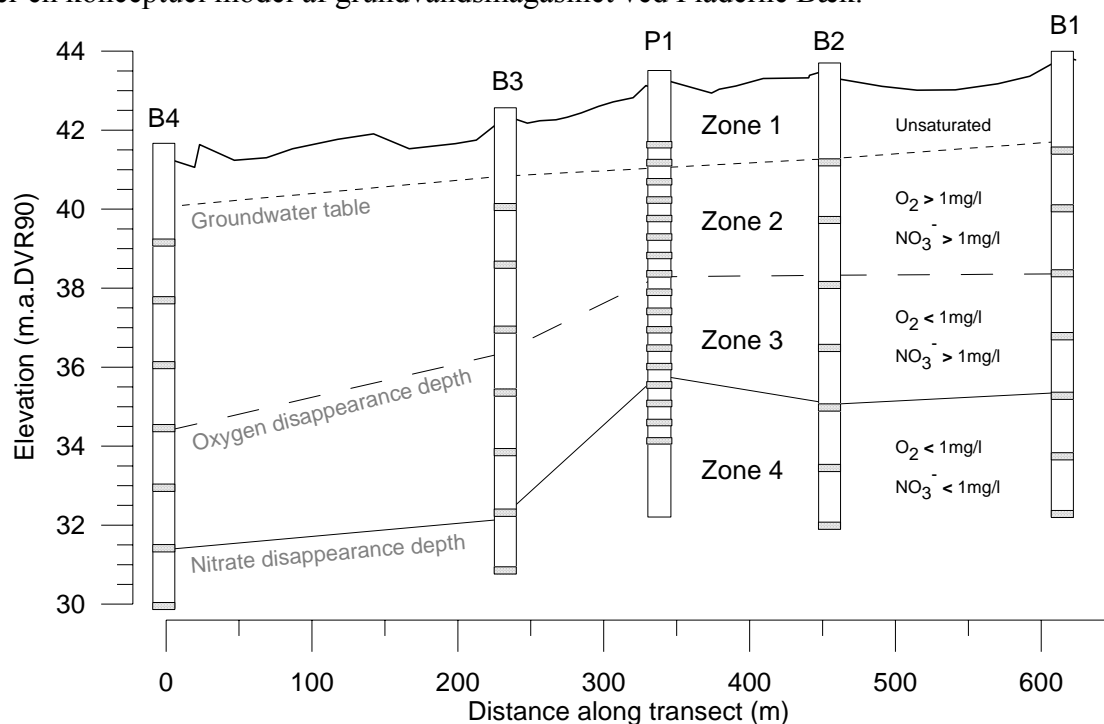
En generel antagelse er, at denne reaktion må være mikrobielt medieret for at kunne forløbe i betydningsfulde rater i naturen. Tilstedeværelsen af disse nitratreducerende og pyritoxiderende bakterier og deres rolle for den formodede *in situ* denitrifikation er dog aldrig blevet eksperimentelt påvist, og forståelsesrammen for nitratreduktion med pyrit er stadig mangelfuld.

FORMÅL

Formålet med specialearbejdet var eksperimentelt at undersøge og dokumentere, om nitrat reduceres ved reaktion med pyrit som elektron donor, og om processen er mikrobielt medieret.

FELTLOKALITET

Undersøgelles- og feltlokaliteten ligger på Karup Hedeslette ved Fladerne Bæk ca. 9 kilometer vest for Karup og består af et sandet grundvandsmagasin med frit vandspejl. Grundvandsmagasinet består primært af smeltevandssand i fin til mellemsandsfraktionen, med forekomster af begravet lignite og pyrit fra Miocæn fra en dybde af ca. 8-9 meter under terræn. I forbindelse med borearbejdet for undersøgelsen blev der installeret en multi-level boring (P1) til monitoring af dybdespecifik grundvandskemi med vandindtag for hver halve meter i dybden 1.5 til 9.5 meter under terræn. Filterindtag ved boring P1 består af 17 sintrede metalfiltre i længden 50 mm monteret på et standard Ø 30mm PEH filterrør med 1 meter filterindtag ved filterrørsafslutning. I forbindelse med tidligere undersøgelser ved GEUS er der etableret en række monitoringsboringer (B1-B4) langs et transekt for grundvandsstrømningen i akviferen med filterindtag i 2.5 meter dybde intervaller. Figur 1 viser en konceptuel model af grundvandsmagasinet ved Fladerne Bæk.



Figur 1: Konceptuel model over grundvandsmagasinet ved Fladerne Bæk undersøgelseslokaliteten. Grundvandsstrømningen går fra boring B1 i øst mod boring B4 i vest. Placering af den nyetablerede multi-level boring til højpræcisions grundvandskemibestemmelse er angivet ved boring P1. Bemærk den voldsomme vertikale overhøjning af y-aksen.

De øvre 10 meter af grundvandsmagasinet kan inddeles i 4 karakteristiske zoner alt efter grundvandets indhold af opløst ilt og nitrat som vist i højre side af figuren, således at zone 3 angiver zonen for nitrat forsvinding under iltfrie forhold.

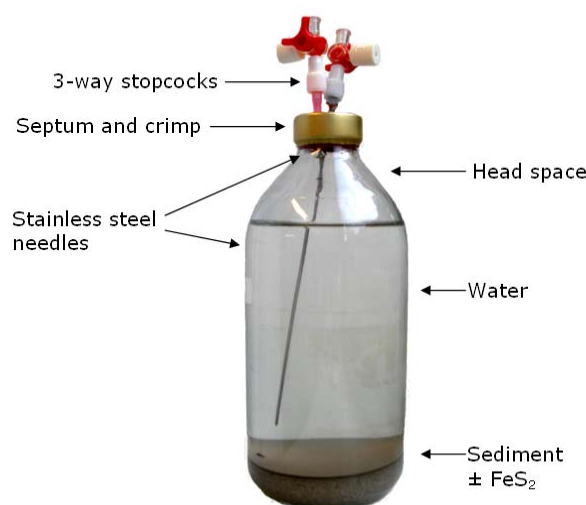
ATV JORD OG GRUNDVAND

VINTERMØDE OM JORD- OG GRUNDVANDSFORURENING

VINGSTEDCENTRET
4. - 5. marts 2008

METODE

Speciearbejdet bestod af to dele, hvor det eksperimentelle arbejde i laboratoriet indgik som hovedelement med tre separate deleksperimenter, og feltarbejdet med opboring af sediment og prøvetagning af grundvand indgik som en mindre indledende del. Laboratoriearbejdet bestod af en række batchforsøg, hvor sediment (100 gram pr. prøveflaske) repræsentativt for hver af de 4 zoner i grundvandsmagasinet blev inkuberet i glasinfusionsflasker (500 ml) under anoxiske forhold ved forskellige nitratkoncentrationer (5, 10 og 50 mg/l), med/uden tilsætning af ekstra nedknust pyrit (± 1 gram), ved forskellige inkubationstemperaturer (9, 13, 22, 29 og 41 °C) og med/uden tilsætning af et baktericid (10 ml 10 % NaN_3). Billede 1 viser et eksempel på en af de anvendte prøveflasker.



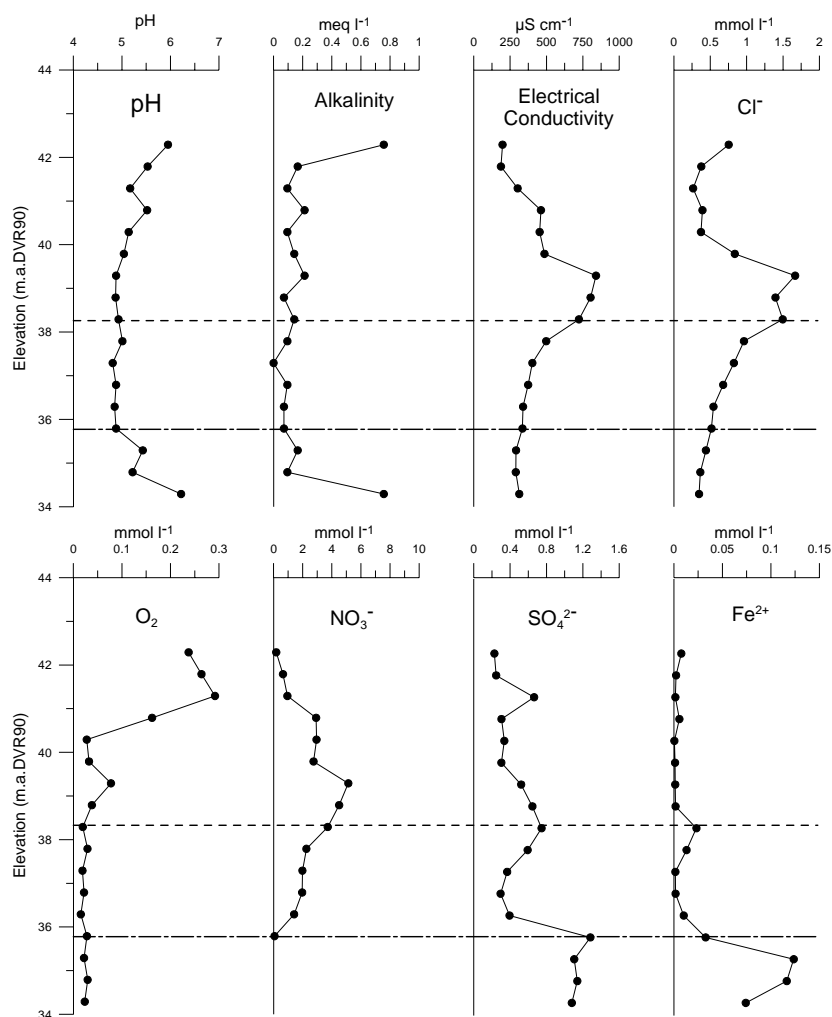
Billede 1: Eksempel på prøveflaskeopsætning. Kombinationen af permanent installeret butylgummi septum, 3-vejshaner og rustfri stål kanyler muliggør non-destruktiv prøvetagning over tid af prøvevæskens kemiske sammensætning under anoxiske forhold.

Sedimentprøverne blev indledningsvist analyseret for *in situ* pH, total carbon (TC %), svovl (TS %), nitrogen (TN %), pyrit (FeS_2 %) samt tekstur analyse for sandfraktionen. Vandprøver af *in situ* grundvandskemien blev analyseret for pH, temperatur, elektrisk ledningsevne (EC) og iltindhold i felten og for alkalinitet, total anioner og kationer i laboratoriet. Prøveflaskerne i det eksperimentelle arbejde blev prøvetaget med 2 til 4 ugers interval over en periode på mellem 180 og 280 dage. Ved hver prøvetagningsgang blev der analyseret for pH (Mettler Toledo MP220) og alkalinitet ved titrering (Schott titroline), Fe^{2+} ved spektrofotometri (Jenway 6405 UV/vis), Cl^- , NO_2^- , NO_3^- og SO_4^{2-} ved ionkromatografi (Dionex HPLC).

RESULTATER

Resultaterne fra sedimentprøve analyserne viser at grundvandsedimentet ikke indeholder målelige mængder pyrit og lignite i dybden 0 til ca. 8.5 meter under terræn. Fra denne dybde stiger det naturlige pyritindhold til mellem 500 og 1000 mg/kg sediment, hvor også lignite forekomsten bliver hyppig, om end noget inhomogent fordelt i sedimentet.

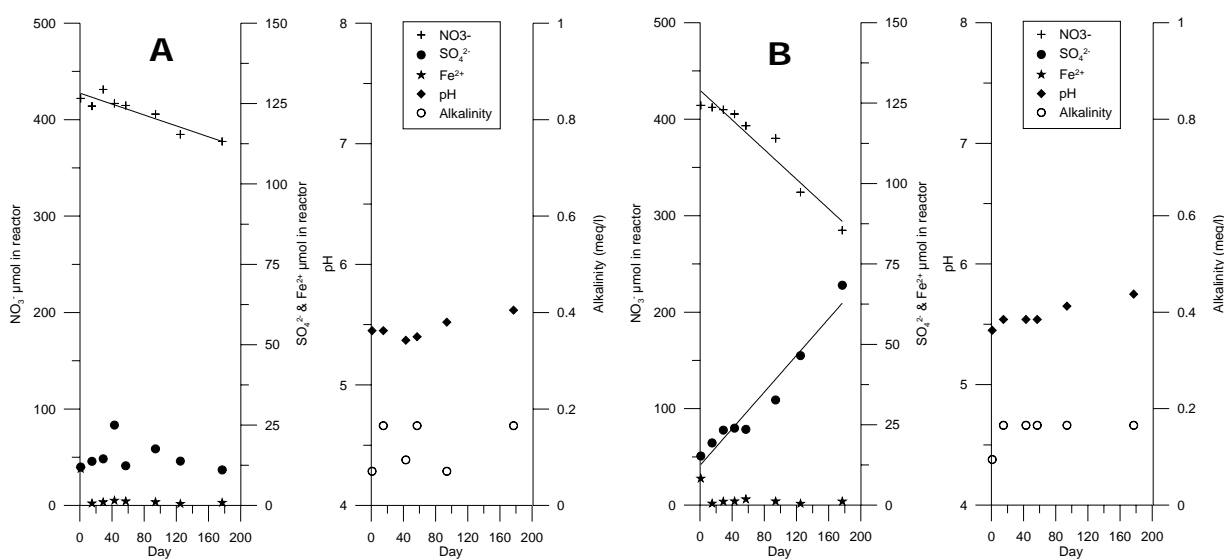
Udvalgte resultater fra en af de udførte vandkemianalyser er vist i figur 2:



Figur 2: Grundvandskemi for udvalgte analyseparametre for dybdespecifikke vandprøver udtaget 06/06/2007 fra boring P1 ved Fladerne Bæk. Første analysepunkt/filterindtag er placeret ca. 1.5 meter under terræn (kote 43.6). Prikket linie angiver dybden hvor iltkoncentrationen falder under 1 mg/l. Stiplet linie angiver dybden hvor grundvandet bliver nitratfrit.

Figur 2 viser forekomsten af to sandsynlige vandlegemer i grundvandsmagasinet, nemlig et øvre iltrigt vandlegeme (\approx kote 42 til 39) påvirket af ungt vand fra den umættede zone og et dybereliggende anoxisk vandlegeme (\approx kote 39 og ned). Denne antagelse understøttes af ikke viste CFC-12 aldersdateringer af samme grundvandsprøver hvor vandet over kote 39 er ungt hvorimod grundvandet under kote 39 har en stigende alder fra omkring 10 til omkring 20 år. NO_3^- koncentrationerne i det ældre vandlegeme har et klar og entydig aftagende forløb indtil nitratforsvindingsdybden omkring 8 meter under terræn (\approx kote 35.5). Ved samme dybde ses en klar stigning i grundvandets indhold af både SO_4^{2-} og Fe^{2+} , samt en stigning i både pH og alkalinitet. Indicier fra *in situ* grundvandskemien tyder således på at nitrat bliver reduceret under iltfrie forhold under produktion af SO_4^{2-} , Fe^{2+} og alkalinitet. Lignende koncentrationsgradienttendenser er i andre studier blevet tolket som indirekte bevis på at nitratreduktion med både reaktivt organisk stof og pyrit finder sted i overgangszonen mellem det oxiske og anoxiske grundvand.

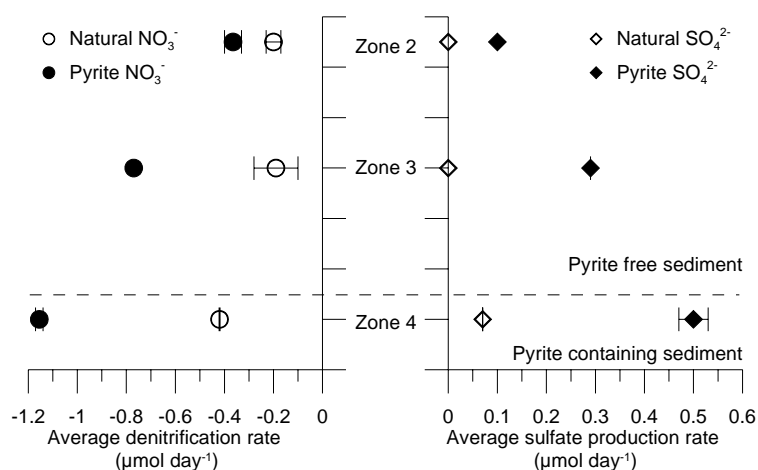
Figur 3 A&B viser eksempler på udviklingen i NO_3^- , SO_4^{2-} , Fe^{2+} , pH og alkalinitet for prøveflasker, hvor sediment fra redoxfronten er inkuberet ved 22 °C uden tilsat pyrit (A) og med 1 gram tilsat nedknust ren krystallinsk pyrit i kornstørrelsen 45-200 μm med et specifikt overflade areal på 0.04 m^2/g (B). Fuldoptrukne linier på figuren indikerer signifikante ($p < 0.05$) statistisk fit-linier fundet ved lineær regression.



Figur 3: Eksempler på udvikling i NO_3^- , SO_4^{2-} , Fe^{2+} , pH og alkalinitet koncentrationer over tid for A – umodificeret pyritfrit redoxfront sediment (zone 3) ved start NO_3^- koncentration på 50 mg/l og B – tilsvarende sediment tilsat 1 gram pyrit under samme forhold.

Figur 3 A&B viser signifikant faldende nitratkoncentrationer over tid for både det umodificerede pyritfrie zone 3 sediment og det tilsvarende pyrittilsatte sediment. Det ses, at nitratreduktionsraten er størst for prøveflasker tilsat pyrit med en følgende produktion af sulfat. Fraværet af sulfatproduktion i figur 3 A tolkes som en direkte konsekvens af manglen på naturlige reducerede svovlforbindelser i det umodificerede sediment. Da eneste forskel på de to batchopstillinger er mængden af pyrit i prøveflaskerne, tolkes forskellen i nitratreduktion og sulfatproduktionsrater mellem de to opsætninger som en direkte indikation af, at den reducerede svovl i den tilsatte pyrit reagerer med nitrat og supplerer en igangværende nitratreduktion.

Figur 4 viser gennemsnitlige nitratreduktion og sulfatproduktions rater per 100 gram sediment, hvor sediment fra de 3 forskellige mættede zoner er inkuberet ved stuetemperatur med ("pyrite") og uden ("natural") ekstra tilsat pyrit.

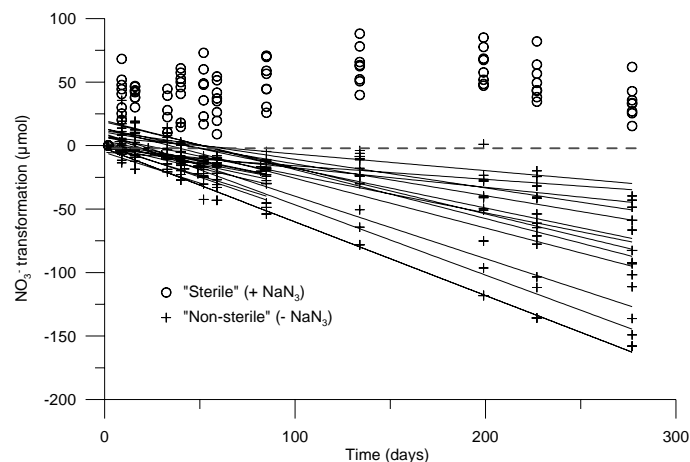


Figur 4: Gennemsnitlige nitratreduktions- (tv.) og sulfatproduktions rater (th.) per 100 gram sediment inkuberet ved stuetemperatur. Den stiplede linie markerer overgangen fra naturligt pyritfrit sediment til naturligt pyritholdigt sediment. Horisontale barer viser minimum/maximum variation for hver prøveflaske duplikat/triplikat. Bemærk at y-aksen viser sediment zone i stedet for dybde under terræn.

Nitratreduktionsraterne for de umodificerede ("Natural") sediment ligger på ca. $-0.2 \mu\text{mol}/\text{NO}_3^-/\text{dag}$ i de pyritfrie zoner og ca. $-0.4 \mu\text{mol}/\text{NO}_3^-/\text{dag}$ i den pyritholdige zone. For sulfatproduktionen i det umodificerede sediment observeres der kun en signifikant sulfatproduktion over tid i den pyritholdige zone. Ved tilsætning af pyrit ("Pyrite"), under ellers identiske forhold, stiger nitratreduktionsraterne en faktor 2 til 4 i forhold til det umodificerede sediment, med en tilsvarende signifikant sulfatproduktion for alle zoner. Det ses således, at tilstedeværelsen af pyrit i det inkuberede sediment tilvejebringer de højeste nitratreduktionsrater, både i det umodificerede og pyrittilsatte sediment. Det ses ligeledes, at signifikante sulfatproduktionsrater kun observeres i de prøveflasker, hvor pyrit er tilstede enten som naturligt forekommende pyrit eller som tilsat pyrit. Det konkluderes derfor, at de forhøjede nitratreduktionsrater og tilstedeværende sulfatproduktion i forbindelse med pyrit i

sedimentet skyldes nitratreduktion ved reaktion med den reducerede svovl i pyrit under produktion af sulfat.

Figur 5 viser et plot af normaliseret nitratreduktion over tid samtlige prøveflasker uden tilsat mikrobiel inhibitor ("Non-sterile") overfor samtlige prøveflasker tilsat NaN_3 som mikrobiel inhibitor ("Sterile").



Figur 5: Normaliseret nitratreduktion over tid for henholdsvis mikrobielt inhiberede ("sterile") og ikke inhiberede ("Non-sterile") prøveflasker.

Variationsbredden for de ikke inhiberede prøveflasker skyldes forskelle i gruppen med hensyn til tilsætning af ekstra pyrit, de forskellige inkubationstemperaturer og grundvandszonerne hvorfra de inkuberede sedimenter stammer. Ikke desto mindre ses en klar, entydig og signifikant separation af de to grupper, således at signifikante nitratreduktionsrater observeres for alle ikke inhiberede prøveflasker, mens ingen nitratreduktion observeres ved de inhiberede prøveflasker. Det konkluderes derfor, at nitratreduktionen er fuldstændig afhængig af mikrobiel katalyse igennem tilstedeværelsen af aktive denitrificerende og pyritoxiderende bakterier.

DISKUSSION

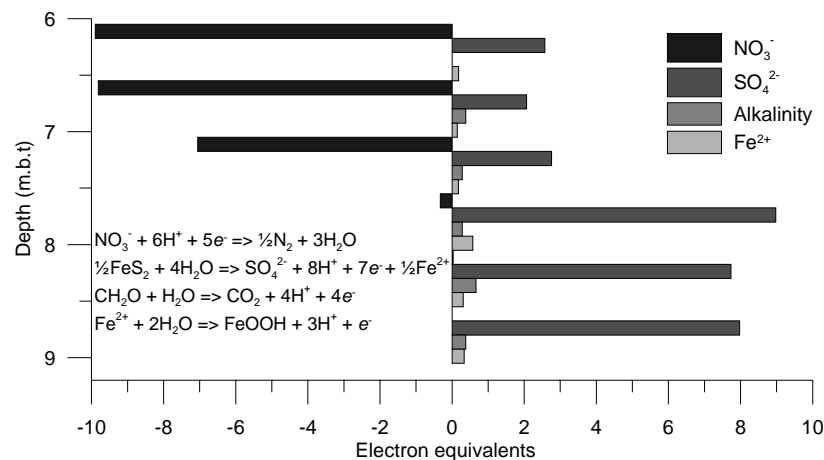
Tilsætning af ekstra pyrit til både pyritfrit og pyritholdigt sediment forøgede som vist i figur 4 igangværende nitratreduktionsrater under produktion af sulfat. Tabel 1 viser gennemsnits nitratreduktions og sulfatproduktionsraterne for både umodificerede og pyrittilsatte prøveflasker for hver grundvandszone udtrykt som elektron ækvivalenter, dvs. den givne molære rate multipliceret med det antal elektroner der overflyttes ved hver af de antagede halvreaktioner i transformationen af nitrat til nitrogen gas og reduceret svovl til sulfat (se evt. figur 6).

Tabel 1: Gennemsnits nitratreduktion- og sulfatproduktionsrater per 100 gram sediment fra zone 2,3 og 4 udtrykt som elektron ækvivalenter for batch forsøg med både umodificeret og pyrittilsat sediment.

Zone	Prøveflasketype	NO ₃ ⁻ reduktion (e ⁻ ækvivalent)	SO ₄ ²⁻ produktion (e ⁻ ækvivalent)
2	Umodificeret (U)	1.0	0.0
	Pyrittilsat (P)	2.0	0.6
	U - P	1.0	0.6
3	Umodificeret	1.0	0.0
	Pyrittilsat	4.0	2.1
	U - P	3.0	2.1
4	Umodificeret	2.0	0.6
	Pyrittilsat	6.0	3.5
	U - P	4.0	2.9

Antager man, at den tilsatte pyrit alene skulle bidrage til den forøgede nitratreduktion under støkiometrisk kongruent produktion af sulfat som vist i reaktionsligning 1, ville den observerede nitratreduktion og sulfatproduktion udtrykt som elektronækvivalenter være af identiske størrelser. Tabel 1 viser dog, at der ikke observeres støkiometrisk kongruent sulfatproduktion per elektronækvivalent nitratreduktion, men at kun ca. 2/3 af den reducerede nitrat kan forklares med en resulterende produktion af sulfat. Tilsætningen af pyrit kan således ikke alene forklare den observerede forøgede nitratreduktion, og det er sandsynligt, at også andre elektrondonorer, som bla. ferrojern frigivet ved oxidationen af pyrit, kunne bidrage til nitratreduktionsforøgelsen.

Figur 6 viser udvalgte grundvandskemiske parametre fra grundvandsmagasinet i dybdeintervallet omkring nitratforsvindingsfronten udtrykt som elektronækvivalenter. Det ses, at nitraten forsvinder fuldstændigt fra grundvandet i samme dybde som pyrit og lignite begynder at optræde. Betragter man mængden af nitratækvivalenter der reduceres med mængden af producerede sulfatækvivalenter ses, under antagelse af et forsimpelt vertikalt grundvandsstrømningsforløb, at op imod 80 % af den reducerede nitrat genfindes som sulfat under nitratforsvindingsfronten.



Figur 6: Udvalgt grundvandskemi omkring nitratforsvindingsfronten ved boring P1.

Det ser således ud til, at man ved tilsætning af nedknust pyrit til det pyritfrie sediment kan skabe et denitrificerende mikrokosmos, hvor nitrat reduceres under reaktion med pyrit, og hvor reaktionsprodukterne er af samme støkiometriske størrelsesorden, som hvad der genfindes i *in situ* grundvandskemi i de uforstyrrede naturlige omgivelser. Det er derfor sandsynligt, at nitrat langt overvejende bliver reduceret via denitrifikation med pyrit som elektrondonor i de naturlige omgivelser, ganske som det kunne observeres under laboratoriets kontrollerede forhold.

KONKLUSION OG PERSPEKTIVER

Det er igennem specialearbejdet blevet eksperimentelt påvist, at nitrat kan reduceres med pyrit som elektron donor, og at processen er fuldstændig afhængig af mikrobiel katalyse for at finde sted. De observerede procesrater og reaktionsprodukter fra inkubationsforsøgene er fundet i fin overensstemmelse med observerede dybdespecifikke grundvandskemiske forhold naturlige forhold i Fladerne Bæk akviferen. De fundne denitrifikationsrater fra inkubationsforsøg ved anvendelse af umodificeret sediment under inkubationstemperaturer tilsvarende naturlige forhold har lovende perspektiver i forbindelse med grundvandsmodellering af *in situ* denitrifikation i pyritholdige sandede grundvandsmagasiner.

UDVALGT LITTERATURLISTE EFTER UDGIVELSEÅR

- /1/ Formation of sulfate by microbial denitrification in a reducing aquifer, Kölle, W., Strebel, O., Böttcher., 1985, Water Supply, Vol. 3, pp. 35-40.
- /2/ Geokemiske processer i et grundvandsmagasin, Jacobsen, O.S., Larsen, H.V., Andersen, I., 1990, Miljøstyrelsen.
- /3/ Correlation of nitrate profiles with groundwater and sediment characteristics in a shallow sandy aquifer, Pedersen, J.K., Bjerg, P.L., Christensen, T.H., 1991, Journal of Hydrology, Vol. 24, No. 3, pp. 263-277.
- /4/ Nitrate Reduction in an Unconfined Sandy Aquifer: Water Chemistry, Reduction Processes, and Geochemical Modeling, Postma, D., Boesen, C., Kristiansen H., Larsen, F., 1991, Water Resources Research, Vol. 27, No. 8, pp. 2027-2045.
- /5/ Attenuation of nitrate in aquitard sediments of southern Ontario, Robertson, W.D., Russell, B.M., Cherry, J.A., 1996, Journal of Hydrology, Vol. 180, pp. 267-281.
- /6/ Mechanism and rate of denitrification in an agricultural watershed; Electron and mass balance along groundwater flow paths, Tesoriero, A.J., Liebscher, H., Cox, S.E., 2000, Water Resources Research, Vol. 36, No. 6, pp. 1545-1559.
- /7/ The effects of electron donor and granular iron on nitrate transformation rates in sediments from a municipal water supply aquifer. Devlin, J.F., Eedy, R., Butler, B.J., 2000, Journal of Contaminant Hydrology 46, pp. 81-97.
- /8/ Grundvandsovervågning, GEUS, 2004, Danmarks og Grønlands Geologiske undersøgelser.
- /9/ In Situ Mesocosms: Denitrification in the Elk Valley Aquifer. Korom, S.F., Schlag, A.J. William, Schuh, M., Schlag, A.K., 2005, Ground Water Monitoring & Remediation, Vol. 25, No. 1, pp. 79-89.

En kopi af den originale og uforkortede specialerapport på engelsk med samtlige referencer og komplet litteraturliste kan rekvireres som pdf. ved kontakt til Christian Juncher Jørgensen på dobbelhop@gmail.com.

ATV JORD OG GRUNDVAND
VINTERMØDE OM JORD- OG GRUNDVANDSFORURENING

VINGSTEDCENTRET
4. - 5. marts 2008